

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL PROPOLIS TERHADAP  
PENURUNAN EKSPRESI *CYCLIN D1* DAN PENINGKATAN  
APOPTOSIS PADA KULTUR SEL KANKER PAYUDARA  
(*CELL LINE MCF-7*)**

**TESIS**



**Oleh:**

**Teky Widyarini**

**S961308007**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I  
ILMU PENYAKIT DALAM FAKULTAS KEDOKTERAN UNS/  
RSUD DR. MOEWARDI SURAKARTA  
2017**

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL PROPOLIS TERHADAP  
PENURUNAN EKSPRESI *CYCLIN D1* DAN PENINGKATAN  
APOPTOSIS PADA KULTUR SEL KANKER PAYUDARA  
(*CELL LINE MCF-7*)**

**TESIS**

Disusun untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Spesialis Penyakit  
Dalam dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Penyakit Dalam Fakultas  
Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

**Oleh:**

**Teky Widyarini**

**S961308007**

**PEMBIMBING:**

**dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM, FINASIM**

**Prof. Dr. dr. H.M. Bambang Purwanto, Sp.PD-KGH, FINASIM**

**Drs. Sumardi, MM**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I  
ILMU PENYAKIT DALAM FAKULTAS KEDOKTERAN UNS/  
RSUD DR. MOEWARDI SURAKARTA**

**2017**

## LEMBAR PENGESAHAN

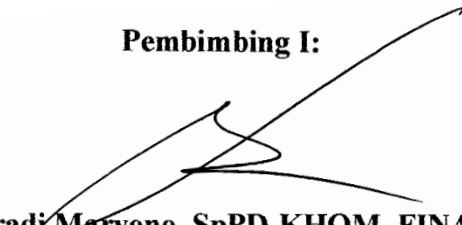
Penelitian dengan judul :

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL PROPOLIS TERHADAP  
PENURUNAN EKSPRESI *CYCLIN D1* DAN PENINGKATAN  
APOPTOSIS PADA KULTUR SEL KANKER PAYUDARA  
(*CELL LINE MCF-7*)**

Telah disetujui dan disahkan pada

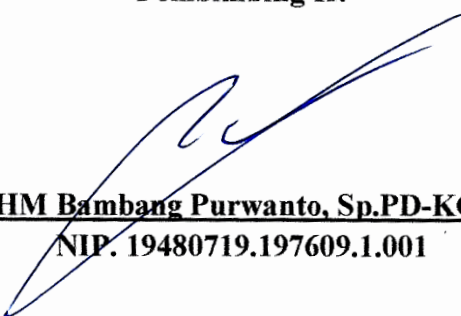
Hari/ tanggal : April 2017

Pembimbing I:




**dr. Suradi Marvono, SpPD-KHOM, FINASIM**  
NIP. 19470812 197310 1 001

Pembimbing II:



**Prof. Dr. dr. HM Bambang Purwanto, Sp.PD-KGH, FINASIM**  
NIP. 19480719.197609.1.001

Pembimbing/Konsultan Statistik:



**Drs. Sumardi, MM**  
NIP. 1962908.19870.21.004

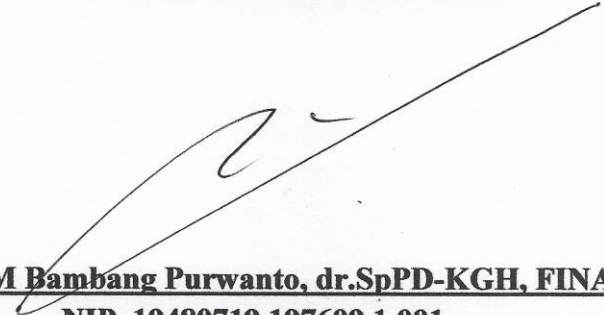
Telah diuji dan diseminarkan pada hari Kamis, 31 Agustus 2017

di Bagian Ilmu Penyakit Dalam RSUD Dr. Moewardi Surakarta

Penelitian Tugas Akhir yang berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL PROPOLIS TERHADAP  
PENURUNAN EKSPRESI *CYCLIN D1* DAN PENINGKATAN  
APOPTOSIS PADA KULTUR SEL KANKER PAYUDARA  
(*CELL LINE MCF-7*)**

Ketua Program Studi PPDS 1 Ilmu Penyakit Dalam  
FK UNS / RSUD Dr. Moewardi Surakarta



**Prof.Dr. H.M Bambang Purwanto, dr.SpPD-KGH, FINASIM**  
**NIP. 19480719 197609 1 001**

Kepala Bagian Ilmu Penyakit Dalam  
FK UNS / RSUD Dr. Moewardi Surakarta



**Prof.Dr. H.M Bambang Purwanto, dr.SpPD-KGH, FINASIM**  
**NIP. 19480719 197609 1 001**

Hari Kamis, 31 Agustus 2017

---

**PANITIA PENGUJI TESIS**

Ketua : dr. Wachid Putranto, SpPD, KGH, FINASIM

Anggota :

1. Prof. Dr. dr. HM. Bambang Purwanto, Sp.PD-KGH, FINASIM
2. dr. Suradi Maryono, Sp.PD-KHOM, FINASIM
3. Drs. Sumardi, MM

## **MOTTO**

“Dengan nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang”

**Kuperuntukan kepada :**

**Orang tua, suami dan anak-anakku tercinta  
yang memberikan support (doa).  
Guru-guruku, teman sejawat dan seluruh civitas akademik  
Almamater**

“Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu tentang Aku, maka (jawablah), bahwasanya Aku adalah dekat. Aku mengabulkan permohonan orang yang berdoa apabila ia memohon kepada-Ku, maka hendaklah mereka itu memenuhi (segala perintah-Ku) dan hendaklah mereka beriman kepada-Ku, agar mereka selalu berada dalam kebenaran.” (Al-Baqarah: 186)

Ya Allah, perbaikilah agamaku yang merupakan sandaran segala urusanku. Dan perbaikilah urusan duniaku yang merupakan tempat tinggalku, dan perbaikilah akhiratku yang merupakan tempat kembaliku..dan jadikanlah kehidupanku sebagai tambahan bagi kebaikanku dan kematianku sebagai tempat istirahat dari segala kejelekanku. (HR Muslim)

Saudaraku, kamu tidak akan mendapatkan ilmu kecuali dengan enam perkara yaitu kecerdasan, antusias (terhadap ilmu), kesungguhan, harta, bergaul dengan guru, dan waktu yang panjang” (Dimaan Asy Syafi’i:15)

Sabar iku lire momot kuwat nandhang sakehing coba lan pandhadharaning ngaurip, nanging ora ateges gampang pepes kentekan pengarep-arep. Suwalike malah kebak pengarep-arep lan kuwawa nampani apa bae kang gumelar ing salumahe jagad iki.

## PERNYATAAN KEASLIAN DAN PERSYARATAN PUBLIKASI

Penulis menyatakan dengan sebesar-besarnya bahwa:

1. Tesis yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Ethanol Propolis Terhadap Penurunan Ekspresi *Cyclin D1* dan Peningkatan Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Payudara (*Cell Line MCF-7*)” ini adalah karya penelitian penulis sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang tertulis dengan acuan yang disebutkan sumbernya, baik dalam naskah karangan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, maka penulis bersedia menerima sanksi, Tesis penulis dibatalkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
2. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada jurnal forum ilmiah harus menyertakan tim promotor sebagai author dan PPs UNS sebagai institusinya. Apabila penulis melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka penulis bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, 31 Agustus 2017



Teky Widyarini  
S961308007

## KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillahahirabbil'aalamin penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan kasih sayang, rahmat dan hidayah-Nya sehingga penyusunan tesis yang berjudul: Pengaruh Ekstrak Ethanol Propolis Terhadap Penurunan Ekspresi *Cyclin D1* dan Peningkatan Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Payudara (*Cell Line MCF-7*) ini dapat terselesaikan dengan baik. Penelitian ini untuk memenuhi sebagian persyaratan dalam memperoleh Gelar Spesialis Penyakit Dalam Program Pendidikan Dokter Spesialis I Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tulus dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Prof. Dr. Ravik Karsidi, M.S., selaku Rektor Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan program pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
2. Prof. Dr. Hartono, dr., M.Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta, yang telah memberikan kemudahan dan dukungan kepada penulis selama menjalani pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
3. dr. Endang Agustinar, M.Kes sebagai Direktur RSUD Dr. Moewardi beserta seluruh jajaran staf direksi yang telah berkenan dan mengijinkan untuk menjalani program pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.



4. Prof. Dr. HM. Bambang Purwanto, dr., SpPD, KGH, FINASIM selaku Kepala Bagian Ilmu Penyakit Dalam dan Ketua Program Studi Ilmu penyakit Dalam FK UNS/ RSUD Dr Moewardi serta Pembimbing II yang telah memberikan ijin, bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan tesis ini, serta memberikan kemudahan penulis dalam melaksanakan program pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
5. dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM, FINASIM selaku Pembimbing I yang telah memberikan ijin, bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan usulan tesis ini.
6. dr. Wachid Putranto, SpPD-KGH, FINASIM selaku Penguji, yang telah membimbing dan memberikan pengarahan, bimbingan dan koreksi penulis dalam melaksanakan penyusunan tesis, selama program pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam.
7. Drs. Sumardi, MM selaku pembimbing/ konsultan statistik penelitian, yang dengan kesabaran telah membimbing dan memberikan pengarahan dalam penyusunan usulan tesis.
8. Seluruh Staf Pengajar Ilmu Penyakit Dalam FK UNS/ RSUD Dr Moewardi Surakarta. Prof. Dr. HA Guntur Hermawan, dr., SpPD-KPTI FINASIM (alm), Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., SpPD-KR,FINASIM, Prof.Dr. Djoko Hardiman, dr., SpPD-KEMD FINASIM, dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM FINASIM, dr. Sumarmi Soewoto SpPD-KGER FINASIM, dr. Tatar Sumandjar, SpPD-KPTI FINASIM, dr. Tantoro Harmono, SpPD-KGEH FINASIM, dr. Tri Yuli Pramana SpPD-KGEH FINASIM, dr. Supriyanto

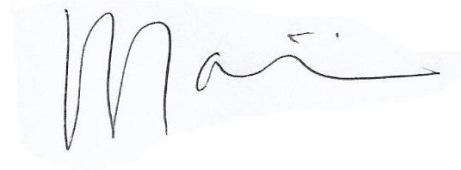
Kartodarsono, SpPD-KEMD FINASIM, Dr. Sugiarto, dr., SpPD, KEMD, FINASIM, dr. Supriyanto Muktiatmojo, SpPD FINASIM, dr. Dhani Redhono, SpPD-KPTI FINASIM, dr. Wachid Putranto, SpPD-KGH, FINASIM, dr. Arifin, SpPD-KIC FINASIM, dr. Fatichati Budiningsih, SpPD-KGer FINASIM, dr. Agung Susanto, SpPD FINASIM, dr. Arief Nurudin SpPD FINASIM, dr. Agus Joko S, SpPD, FINASIM, dr. Yulyani Werdiningsih, SpPD FINASIM, dr. Sri Marwanta SpPD Mkes, dr. Aritantri D SpPD MSc, dr. Bayu Basuki Wijaya SpPD Mkes, dr. R. Satriyo SpPD Mkes, dr. Evi Nurhayatun SpPD Mkes, dr. Eva N SpPD Mkes, dr. Ratih Tri K SpPD, dr. Yudhi Hadjianto Sp.PD Mkes, dr. Agus Jati, Sp.PD, dr. Nurhasan Agung, SpPD Mkes, dr. Aryo Suseno, SpPD Mkes, dan dr. Ratih Arianita, SpPD Mkes, dr. Didik Prasetyo, Sp.PD Mkes, dan dr. Warigit Dri Atmoko, Sp.PD Mkes yang telah memberi dorongan, bimbingan dan bantuan dalam segala bentuk sehingga penulis bisa menyelesaikan penyusunan tesis.

9. Ayahanda dan Ibunda tercinta Widoyo Puruboyo dan Plin Supriyati. Suamiku tercinta Dr. Pujiyono suwadi, SH, MH., buah hatiku Fayha, Mishal dan Asheela, yang telah memberikan kasih sayang dan semangat dengan sabar dan tulus memberikan dorongan moril dan materiil dalam penyelesaian tesis ini dan proses menjalani program pendidikan PPDS I Ilmu Penyakit Dalam
10. Seluruh teman sejawat seperjuangan Residen Ilmu Penyakit Dalam yang telah memberikan dukungan dan bantuan kepada penulis dalam penelitian ini dan selama menjalani pendidikan.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, yang telah

membantu penulis baik dalam menjalani pendidikan maupun dalam persiapan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan tesis ini masih banyak terdapat kekurangan, untuk itu penyusun mohon maaf dan sangat mengharapkan saran serta kritik dalam rangka perbaikan penulisan tesis ini.

Surakarta, 31 Agustus 2017

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. A.', is written on a light blue rectangular background.

Penulis

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL PROPOLIS TERHADAP  
PENURUNAN EKSPRESI *CYCLIN D1* DAN PENINGKATAN  
APOPTOSIS PADA KULTUR SEL KANKER PAYUDARA  
(*CELL LINE MCF-7*)**

RINGKASAN

Teky Widyarini

Kanker payudara merupakan penyebab kematian tersering pada wanita, dan 69% kematian akibat kanker payudara terjadi di negara berkembang. Tamoxifen telah banyak digunakan sebagai pengobatan kanker payudara, melalui kemampuannya menghambat ikatan antara estrogen dengan reseptornya sehingga dapat menginduksi apoptosis. Propolis diketahui memiliki aktivitas anti kanker. Mekanisme utama efek antikanker propolis terkait dengan apoptosis dan juga melalui penghentian siklus sel. *Cyclin D1* yang berperan pada pengendalian siklus sel, merupakan protein yang mengalami peningkatan ekspresi terbanyak pada kanker payudara.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek anti kanker ekstrak ethanol propolis (EEP) yang berasal dari Kerjo, Karanganyar pada kultur sel kanker payudara (MCF-7) melalui potensinya sebagai antikanker dalam penurunan ekspresi protein *Cyclin D1* dan peningkatan apoptosis.

Merupakan penelitian *experimental laboratories post test with control group non cross over design*. Dilakukan pada sel MCF-7 dengan perlakuan pemberian konsentrasi ( $\frac{1}{2}$  IC50, IC50, 2 IC50) EEP, 1 IC50 tamoxifen, kombinasi 1 IC50 (EEP + tamoxifen), dan kontrol. Pengamatan ekspresi protein *Cyclin D1* dengan metode imunositokimia dan pengamatan apoptosis dengan *flowcytometry*. Uji statistik menggunakan ANOVA, dilanjutkan dengan uji *post hoc Tuckey*. Dinyatakan bermakna bila  $p < 0,05$ .

Hasil penelitian didapatkan konsentrasi penghambatan 50% sel MCF-7 (IC50) oleh EEP= 121  $\mu\text{g/mL}$ , dan oleh Tamoxifen= 27  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil uji ANOVA menghasilkan  $p = 0,001$ , menunjukkan masing-masing kelompok berbeda secara menyakinkan. Semua perlakuan pemberian EEP dapat menurunkan ekspresi protein *Cyclin D1* dan meningkatkan apoptosis sel ( $p < 0,05$ ). Kekuatan 1 IC50 EEP, 2 IC50 EEP dan 1 IC50 (EEP+Tamoxifen) setara dengan 1 IC50 Tamoxifen dalam menurunkan ekspresi protein *Cyclin D1* dan meningkatkan apoptosis ( $p > 0,05$ ).

Sehingga dapat disimpulkan bahwa semua konsentrasi EEP menurunkan ekspresi protein *Cyclin D1* dan meningkatkan apoptosis sel. Pemberian EEP yang setara dengan pemberian tamoxifen terjadi pada 1 IC50 EEP dan 2 IC50 EEP, begitu pula dengan pemberian gabungan 1 IC50 (EEP+Tamoxifen).

**Kata kunci : Ekstrak ethanol propolis, *Cyclin D1*, apoptosis, sel MCF-7**

# **EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF PROPOLIS DECREASE *CYCLIN D1* EXPRESSION AND INCREASE OF APOPTOSIS IN BREAST CANCER CELL CULTURE (CELL LINE MCF-7)**

## **SUMMARY**

Teky Widyarini

Breast cancer is the most common cause of death in women, and 69% of breast cancer deaths occur in developing countries. Tamoxifen has been widely used as a treatment for breast cancer, through its ability to inhibit the bond between estrogen and its receptors so as to induce apoptosis. Propolis is known to have anti-cancer activity. The main mechanism of the anti-cancer effects of propolis is related to apoptosis and also through the cessation of the cell cycle. *Cyclin D1*, which plays a role in cell cycle control, is a protein that has increased the most expression in breast cancer.

This study aims to determine the anti-cancer effects of ethanol propolis extract (EEP) derived from Kerjo, Karanganyar on breast cancer cell culture (MCF-7) through its potential as an anticancer in decreased expression of *Cyclin D1* protein and increased apoptosis.

An experimental research laboratories post test with control group non cross over design. Performed on MCF-7 cells by treatment of concentration ( $\frac{1}{2}$  IC50, IC50, 2 IC50) EEP, 1 IC50 tamoxifen, combination 1 IC50 (EEP + tamoxifen), and control. Observation of *Cyclin D1* protein expression with immunocytochemical method and apoptosis observation with flowcytometry. Statistical test using ANOVA, followed by post hoc Tukey test. Declared significant if  $p < 0.05$ .

The result showed that 50% MCF-7 (IC50) inhibition concentration by EEP = 121  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , and by Tamoxifen = 27  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . The ANOVA test result yielded  $p = 0,001$ , showing each group differently. All treatment of EEP administration may decrease the expression of *Cyclin D1* protein and increase cell apoptosis ( $p < 0.05$ ). The strength of 1 IC50 EEP, 2 IC50 EEP and 1 IC50 (EEP + Tamoxifen) is equivalent to 1 IC50 Tamoxifen in decreasing the expression of *Cyclin D1* protein and increasing apoptosis ( $p > 0.05$ ).

It can be concluded that all concentrations of EEP decrease the *Cyclin D1* protein expression and increase cell apoptosis. EEP administration equivalent to tamoxifen administration occurs in 1 IC50 EEP and 2 IC50 EEP, as well as combination 1 IC50 (EEP + Tamoxifen).

**Keywords:** Ethanol propolis extract, *Cyclin D1*, apoptosis, MCF-7 cells

Teky Widayarni. S961308007. 2017. Pengaruh Ekstrak Ethanol Propolis Terhadap Penurunan Ekspresi *Cyclin D1* Dan Peningkatan Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Payudara (*Cell Line MCF-7*). TESIS. Pembimbing I : dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM FINASIM, Pembimbing II : Prof. Dr. dr. Bambang Purwanto, SpPD-KGH FINASIM. Program PPDS I Ilmu Penyakit Dalam. Universitas Sebelas Maret Surakarta.

## ABSTRAK

**Latar Belakang :** Kanker payudara merupakan penyebab kematian tersering pada wanita, dan 69% kematian akibat kanker payudara terjadi di negara berkembang. Tamoxifen telah banyak digunakan sebagai pengobatan kanker payudara, melalui kemampuannya menghambat ikatan antara estrogen dengan reseptornya sehingga dapat menginduksi apoptosis. Propolis diketahui memiliki aktivitas anti kanker. Mekanisme utama efek antikanker propolis terkait dengan apoptosis dan juga melalui penghentian siklus sel. *Cyclin D1* yang berperan pada pengendalian siklus sel, merupakan protein yang mengalami peningkatan ekspresi terbanyak pada kanker payudara.

**Tujuan Penelitian :** mengetahui efek anti kanker ekstrak ethanol propolis (EEP) yang berasal dari Kerjo, Karanganyar pada kultur sel kanker payudara (MCF-7) melalui potensinya sebagai antikanker dalam penurunan ekspresi protein *Cyclin D1* dan peningkatan apoptosis.

**Metode Penelitian :** Merupakan penelitian *experimental laboratories post test with control group non cross over design*. Dilakukan pada sel MCF-7 dengan perlakuan pemberian konsentrasi ( $\frac{1}{2}$  IC50, IC50, 2 IC50) EEP, 1 IC50 tamoxifen, kombinasi 1 IC50 (EEP + tamoxifen), dan kontrol. Pengamatan ekspresi protein *Cyclin D1* dengan metode imunositokimia dan pengamatan apoptosis dengan *flowcytometry*.. Uji statistik menggunakan ANOVA, dilanjutkan dengan uji *post hoc Tuckey*. Dinyatakan bermakna bila  $p < 0,05$ .

**Hasil Penelitian :** Hasil penelitian didapatkan konsentrasi penghambatan 50% sel MCF-7 (IC50) oleh EEP= 121  $\mu\text{g/mL}$ , dan oleh Tamoxifen= 27  $\mu\text{g/mL}$ . Hasil uji ANOVA menghasilkan  $p = 0,001$ , menunjukkan masing-masing kelompok berbeda secara menyakinkan. Semua perlakuan pemberian EEP dapat menurunkan ekspresi protein *Cyclin D1* dan meningkatkan apoptosis sel ( $p < 0,05$ ). Kekuatan 1 IC50 EEP, 2 IC50 EEP dan 1 IC50 (EEP+Tamoxifen) setara dengan 1 IC50 Tamoxifen dalam menurunkan ekspresi protein *Cyclin D1* dan meningkatkan apoptosis ( $p > 0,05$ ).

**Kesimpulan :** semua konsentrasi EEP menurunkan ekspresi protein *Cyclin D1* dan meningkatkan apoptosis sel. Pemberian EEP yang setara dengan pemberian tamoxifen terjadi pada 1 IC50 EEP dan 2 IC50 EEP, begitu pula dengan pemberian gabungan 1 IC50 (EEP+Tamoxifen)

**Kata kunci :** Ekstrak ethanol propolis, *Cyclin D1*, apoptosis, sel MCF-7

Teky Widyarini. S961308007. 2017. Effect of Ethanol Extract Of Propolis Decrease *Cyclin D1* Expression And Increase of Apoptosis in Breast Cancer Cell Culture (Cell Line *MCF-7*). Thesis. Supervisor I: dr. Suradi Maryono, SpPD-KHOM FINASIM, Supervisor II: Prof. Dr. dr. Bambang Purwanto, SpPD-KGH FINASIM. PPDS I Internal Medicine Program. Sebelas Maret University Surakarta

## ABSTRACT

### Background

Breast cancer is the most common cause of death in women, and 69% of breast cancer deaths occur in developing countries. Tamoxifen has been widely used as a treatment for breast cancer, through its ability to inhibit the bond between estrogen and its receptors so as to induce apoptosis. Propolis is known to have anti-cancer activity. The main mechanism of the anti-cancer effects of propolis is related to apoptosis and also through the cessation of the cell cycle. *Cyclin D1*, which plays a role in cell cycle control, is a protein that has increased the most expression in breast cancer.

### Objectives

This study aims to determine the anti-cancer effects of ethanol propolis extract (EEP) derived from Kerjo, Karanganyar on breast cancer cell culture (*MCF-7*) through its potential as an anticancer in decreased expression of *Cyclin D1* protein and increased apoptosis.

### Methods

An experimental research laboratories post test with control group non cross over design. Performed on *MCF-7* cells by treatment of concentration ( $\frac{1}{2}$ IC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub>, 2IC<sub>50</sub>) EEP, 1IC<sub>50</sub> tamoxifen, combination 1IC<sub>50</sub> (EEP + tamoxifen), and control. Observation of *Cyclin D1* protein expression with immunocytochemical method and apoptosis observation with flowcytometry. Statistical test using ANOVA, followed by post hoc Tukey test. Declared significant if  $p < 0.05$ .

### Results

The result showed that 50% *MCF-7* (IC<sub>50</sub>) inhibition concentration by EEP = 121  $\mu\text{g}$  / mL, and by Tamoxifen = 27  $\mu\text{g}$  / mL. The ANOVA test result yielded  $p = 0,001$ , showing each group differently. All treatment of EEP administration may decrease the expression of *Cyclin D1* protein and increase cell apoptosis ( $p < 0.05$ ). The strength of 1 IC<sub>50</sub> EEP, 2 IC<sub>50</sub> EEP and 1 IC<sub>50</sub> (EEP + Tamoxifen) is equivalent to 1 IC<sub>50</sub> Tamoxifen in decreasing the expression of *Cyclin D1* protein and increasing apoptosis ( $p > 0.05$ ).

### Conclusions

It can be concluded that all concentrations of EEP decrease the *Cyclin D1* protein expression and increase cell apoptosis. EEP administration equivalent to tamoxifen administration occurs in 1IC<sub>50</sub> EEP and 2IC<sub>50</sub> EEP, as well as combination 1 IC<sub>50</sub> (EEP + Tamoxifen).

**Keywords:** Ethanol propolis extract, *Cyclin D1*, apoptosis, *MCF-7* cells

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan .....	iii
Tim Penguji Tesis.....	v
Motto.....	vi
Pernyataan Keaslian dan Persyaratan Publikasi .....	vii
Kata Pengantar .....	viii
Ringkasan .....	xii
Summary .....	xiii
Abstrak .....	xiv
Abstract .....	xv
Daftar Isi .....	xvi
Daftar Gambar .....	xx
Daftar Tabel .....	xxiii
Daftar Lampiran.....	xxiv
Daftar Singkatan.....	xxvi
 BAB I. PENDAHULUAN .....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1. Tujuan umum.....	5



2. Tujuan khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1. Manfaat teoritis .....	6
2. Manfaat praktis .....	6
BAB II. LANDASAN TEORI.....	7
2.1 Tinjauan Pustaka.....	7
1. Siklus Sel Normal .....	7
2. Proliferasi sel .....	10
3. Apoptosis.....	12
4. Kanker dan Karsinogenesis .....	17
5. Kanker Payudara.....	20
a. Epidemiologi .....	20
b. Etiologi dan Faktor Resiko .....	22
c. Klasifikasi Histologi Kanker Payudara .....	25
d. Subtipe Molekular Kanker Payudara Invasif .....	26
e. Klasifikasi klinik Kanker Payudara.....	30
f. Stadium Kanker Payudara .....	31
6. Sel Kanker Payudara MCF-7 ( <i>Michigan Cancer Foundation 7</i> ) .....	34
7. Patofisiologi.....	36
8. Terapi.....	41
9. Propolis.....	43
a. Definisi propolis .....	43
b. Kandungan kimia propolis .....	45

c. Aktivitas biologis propolis .....	49
d. Ekstraks dan Ekstraksi Propolis .....	53
1) Definisi .....	53
2) Cairan pelarut .....	54
2.2 Kerangka Pikir .....	56
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN .....	60
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian .....	60
3.2 Hipotesis Penelitian .....	60
BAB IV. METODE PENELITIAN .....	61
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	61
4.2 Jenis dan Subyek Penelitian .....	61
4.3 Waktu Penelitian .....	62
4.4 Sampel dan Besar Sampel Penelitian .....	63
4.5 Variabel Penelitian .....	64
4.6 Definisi Operasional .....	64
4.7 Bahan dan Alat Penelitian .....	66
4.8 Jalannya Penelitian .....	69
4.9 Alur Penelitian .....	79
4.10 Analisis Penelitian .....	84
BAB V. ANALISIS HASIL PENELITIAN .....	85
5.1 Data Penelitian .....	86
1. Uji sitotoksitas dengan <i>MTT assay</i> untuk menetapkan nilai IC <sub>50</sub> ekstrak etanol propolis dan tamoxifen .....	86

2. Pengamatan penekanan ekspresi <i>cyclin D1</i> .....	89
3. Uji induksi apoptosis EEP pada sel MCF-7 dengan flowcytometry .....	92
5.2 Analisis Hasil Penelitian .....	95
5.3 Deskripsi Variabel Penelitian .....	98
1. Variabel Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i> .....	98
2. Variabel Apoptosis .....	100
5.4 Analisis Pengaruh Pemberian EEP terhadap Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i> dan Apoptosis .....	102
1. Variabel Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i> .....	103
2. Variabel Apoptosis .....	107
BAB VI. PEMBAHASAN .....	112
6.1 Berdasarkan pendekatan prinsip ontologi .....	112
6.2 Berdasarkan Pendekatan Prinsip Epistemologi .....	113
6.3 Berdasarkan Prinsip Aksiologi .....	117
6.4 Nilai Kebaruan penelitian .....	117
6.5 Keterbatasan Penelitian .....	118
BAB VII. PENUTUP .....	120
7.1 Kesimpulan .....	123
7.2 Saran .....	123
DAFTAR PUSTAKA .....	125

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Siklus Sel Normal .....	9
Gambar 2.2. Tahapan proliferasi siklus sel.....	12
Gambar 2.3. Apoptosis jalur ekstrinsik dan intrinsik .....	16
Gambar 2.4. Skema sederhana dasar molekuler penyakit kanker.....	19
Gambar 2.5. Tahapan proses karsinogenesis .....	20
Gambar 2.6. Subtipe kanker payudara berdasarkan faktor intrinsik.....	30
Gambar 2.7. Sel MCF-7 perbesaran 10x.....	36
Gambar 2.8. Skema Aksi Estrogen terhadap ER $\alpha$ secara Molekuler .....	37
Gambar 2.9. Jalur utama perkembangan kanker payudara .....	41
Gambar 2.10. Struktur molekul flavones (flavonoid) .....	48
Gambar 2.11. Struktur Molekul <i>CAPE</i> .....	52
Gambar 2.12. Kerangka Pikir .....	56
Gambar 3.1. Kerangka Konseptual Penelitian .....	60
Gambar 4.1. Skema pengisian plat mikrokultur uji sitotoksitas .....	72
Gambar 4.2. Skema pengisian plat mikrokultur untuk pengamatan ekspresi protein <i>Cyclin D1</i> .....	74
Gambar 4.3. Alur Penelitian .....	79
Gambar 4.4. Uji sitotoksitas IC <sub>50</sub> dengan metode MTT .....	80
Gambar 4.5. Uji Apoptosis dengan Flowcytometry .....	81

Gambar 4.6.	Uji ekspresi protein <i>Cyclin D1</i> dengan metode imunositokimia.....	82
Gambar 5.1.	Morfologi Sel MCF.....	85
Gambar 5.2.	Pembentukan Kristal formazan setelah pemberian reagen yellow MTT.. .....	87
Gambar 5.3.	Hasil pengecatan imunositokimia perbesaran 400 kali untuk ekspresi <i>cyclin D1</i> pada sel MCF-7 setelah perlakuan dan inkubasi selama 24 jam pada kelompok dengan EEP konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50 (a), IC50 (b), 2IC50 (c), kelompok dengan tamoxifen (d) kelompok IC50 EEP + tamoxifen (e) dan kelompok kontrol (f).. .....	91
Gambar 5.4.	Gambar sel MCF-7 dengan perbesaran 400 kali, untuk uji apoptosis setelah inkubasi 24 jam pada EEP konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50 (a), IC50 (b), 2IC50 (c), kelompok dengan tamoxifen (d), kelompok IC50 EEP + tamoxifen (e) dan kelompok kontrol (f).. .....	93
Gambar 5.5.	Hasil flowcytometry sel MCF-7 setelah perlakuan dan inkubasi selama 24 jam pada kelompok kontrol (a), kelompok dengan pemberian EEP konsentrasi $\frac{1}{2}$ IC50(b), IC50(c) dan 2 IC50(d) serta kelompok dengan pemberian Tamoxifen konsentrasi IC50 (e) dan pemberian IC50 EEP + tamoxifen (f).....	95
Gambar 5.6.	Perbandingan Nilai Rata-rata Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i>	

	antar Kelompok Sampel.....	100
Gambar 5.7.	Perbandingan nilai rata-rata Apoptosis antar Kelompok Sampel.....	102

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Histologi Kanker Payudara .....	25
Tabel 2.2. Klasifikasi Kanker Payudara Berdasarkan T,N,M .....	33
Tabel 2.3. Senyawa utama dari propolis .....	49
Tabel 4.1. Jadwal penelitian .....	62
Tabel 5.1. Nilai rata-rata persentase viabilitas sel MCF-7 dan nilai IC50 bahan uji dengan metode MTT assay.....	88
Tabel 5.2. Deskripsi dan Uji Normalitas Variabel Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i> .....	98
Tabel 5.3. Deskripsi dan Uji Normalitas Variabel Apoptosis.....	101
Tabel 5.4. Hasil Pengujian (ANOVA) Variabel Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i> menurut Kelompok Sampel.....	103
Tabel 5.5. Penelusuran Beda Dua Mean Variabel Ekspresi Protein <i>Cyclin D1</i> antar Kelompok Sampel menggunakan Turkey-Post-Hoc Test .....	105
Tabel 5.6. Hasil Pengujian ANOVA Variabel Apoptosis menurut Kelompok Sampel.....	107
Tabel 5.7. Penelusuran Beda Dua Mean Variabel Apoptosis antar Kelompok Sampel.....	110

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Ethical clearance.....	132
Lampiran 2.	Sertifikat kursus kultur jaringan .....	133
Lampiran 3.	Absorbansi sel MCF-7 setelah pemberian bahan uji .....	134
Lampiran 4.	Persentase viabilitas sel MCF-7 setelah pemberian bahan uji ....	135
Lampiran 5.	Analisis regresi linear untuk menentukan IC50 EEP .....	135
Lampiran 6.	Analisis statistik untuk memastikan kemaknaan perbedaan ekspresi <i>Cyclin D1</i> pada sel MCF-7 pada keenam kelompok.....	137
Lampiran 7.	Analisis statistik untuk memastikan kemaknaan perbedaan persentase apoptosis sel MCF-7 pada keenam kelompok perlakuan .....	145
Lampiran 8.	Dokumentasi penelitian .....	152



## DAFTAR SINGKATAN

AP-1	: <i>Activator protein-1</i>
APAF-1	: <i>Apoptotic Protease Activating Factor-1</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
BAK	: <i>Bcl-2 homologous Antagonist/Killer protein</i>
BAX	: <i>Bcl-2 associated X protein</i>
BRCA1	: <i>Breast Cancer Susceptibility Genes 1</i>
BRCA2	: <i>Breast Cancer Susceptibility Genes 2</i>
CAPE	: <i>Caffeic Acid Phenethyl Ester</i>
CDK	: <i>Cyclin dependent kinase</i>
CIN	: <i>Cromosomal Instability</i>
DISC	: <i>Death-inducing singnalling complex</i>
DCIS	: <i>Ductal Carcinoma In Situ</i>
DNA	: <i>Deoksiribonukleat Acid</i>
EEP	: <i>Ekstrak etanol propolis</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-regulated kinases</i>
EGFR	: <i>Endotheal Growth Factor Receptor</i>
COX2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
FAS	: <i>Fatty Acid Synthase</i>
FADD	: <i>Fas-associated death domain</i>
HER2	: <i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>
IC50	: <i>Inhibition Concentration 50</i> (concentration of a drug that gives half-maximal response) → (Pada penelitian ini : $1/2 \text{ IC}_{50} = 60$ )

$\mu\text{g/mL}$ ,  $\text{IC}_{50} = 121 \mu\text{g/mL}$  , 2  $\text{IC}_{50} = 242 \mu\text{g/mL}$  dan  $\text{IC}_{50}$

Tamoxifen =  $27 \mu\text{g/mL}$ )

IDC	: <i>Invasive Ductal Carcinoma</i>
ILC	: <i>Invasive Lobular Carcinoma</i>
IBC	: <i>Inflammatory Breast Cancer</i>
IAP	: <i>Inhibitor of Apoptosis Proteins</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activated protein kinase</i>
MIN	: <i>Microsatellite Instability</i>
MMR	: <i>Missmatch repair</i>
MCF-7	: <i>Michigan Cancer Foundation 7</i>
NFkB	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NFAT	: <i>Nuclear factor of activated cells</i>
pGP	: <i>P-glikoprotein</i>
PI3K	: <i>Phosphatidylinositide 3-kinases</i>
PR	: <i>Progesteron Receptor</i>
PS	: <i>phosphatidylserine</i>
RB	: <i>Retinoblastoma</i>
TSG	: <i>Tumor Suppressor Gene</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
TRADD	: <i>TNF receptor-associated death domain</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothel Growth Factor</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

